LE *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *MELONIS* SN. & H. DANS LE SYSTEME VASCULAIRE DE PLANTS DE MELON SENSIBLES OU RÉSISTANTS :

Étude des relations par microscopie électronique à balayage

par M. EL MAHJOUB* et D. LE PICARD*

RÉSUMÉ. — Des plants de melon (cv. charentais fom 1) sont inoculés par différentes races physiologiques de *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. Des observations par microscopie électronique à balayage sont effectuées sur des coupes longitudinales dans le système vasculaire de la tige épicotylée.

– En cas de relation incompatible (CH.fom 1 x race 0), quelques vaisseaux seulement sont parasités. Une couche grumeleuse les tapisse. Les rares hyphes fongiques observées sont engluées dans cette couche. Des thylles sont formées dans les éléments conducteurs.

En cas de relation compatible avec flétrissement (CH.fom 1 x race 1-2F), la réaction est sensiblement identique à celle vue précédemment avec cependant un plus grand nombre de vaisseaux touchés; le mycélium y est par contre plus abondant et présente des parois lisses.

– En cas de jaunissement (CH.fom 1 x race 1-2J), la majorité des éléments conducteurs montre des dépôts de gomme. Le mycélium très abondant est également lisse.

En cas de sensibilité, de fréquents passages de filaments mycéliens à travers les ponctuations sont notés.

Le développement des symptômes de flétrissement semble aller de pair avec la présence de la couche grumeleuse alors que la gommose existe en cas de jaunissement.

Le rôle des différentes formations décrites est discuté.

SUMMARY. — Vessels in stems of charentais-fom 1 (race 0 resistant; race 1-2F and race 1-2J susceptible) melon cultivar inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* races 0, 1-2F (wilt) or 1-2J (yellow) were examined by scanning electron microscopy.

Uninoculated plants had smooth vessels and unobstructed pits. In the resistant host-pathogen combination, some vessels were colonised; a granular «sheath like» material coated vessel surface, occluded pits and embedded the rare *Fusarium* hyphae.

After inoculation with conidia of race 1-2F, more vessels were colonised; the sheath material and the occlusion of pits were also frequently observed.

* Laboratoire de Microbiologie appliquée à l'Agriculture et aux Industries Agro-Alimentaires, Faculté des Sciences et Techniques, Université de Bretagne Occidentale, 29287 Brest Cedex, France.

CRYPTOGAMIE, MYCOLOGIE *(Cryptogamie, Mycol.)* TOME 6 (1985).

The occurrence of an important gummosis, occluding vessels lumens, was noted after inoculation with race 1-2J.

In the susceptible host-pathogen combinations, mycelia growth often filled the vessels; hyphae appeared normal, and sporulation was noted. Frequent lateral spread of the pathogen occurred between adjacent vessels through the bordered pit.

Neither the plants of the resistant nor the susceptible host-pathogen combinations had perforation plates or tyloses within vessel elements capable of trapping conidia or effectively blocking hyphal growth.

The development of wilt symptoms was closely related to coated vessel walls and yellow symptoms to plugged vessels.

MOTS CLÉS : *Cucumis melo* L., *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, melon, microscopie à balayage, vaisseaux du xylème.

INTRODUCTION

Plusieurs hypothèses sont avancées pour expliquer la résistance variétale dans le cas des trachéomycoses. L'une d'elles se fonde sur la présence de barrières physiques dans les vaisseaux, empêchant l'installation et le développement du parasite. Parmi ces barrières, certaines sont de nature anatomique (extrémités des vaisseaux, cloisons transversales et marges qui subsistent après hydrolyse), d'autres sont issues de la réaction hôte-parasite (thylles et gommes) (BECKMAN, 1966, 1968; BECKMAN & HALMOS, 1962, 1972; ELGERSMA & al. 1972; VAN DER MOLLEN & al. 1977; CONWAY & MAC HARDY, 1978; BECKMAN & TALBOYS, 1981).

Le Melon (*Cucumis melo* L.) possède des variétés ayant différents degrés de résistance à des races physiologiques de *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* Sn. et H. (RISSER & al. 1976) et est capable de former des thylles et des gommes (EL MAHJOUB, 1971, 1985; EL MAHJOUB & al., 1984b).

Nous nous proposons d'étudier comparativement, par le biais de la microscopie électronique à balayage, la réaction du système vasculaire d'une variété de melon charentais, dans des conditions de relation hôte-parasite compatible ou incompatible après inoculation par certaines races physiologiques de *F. o. melonis*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des plants de melon charentais possédant le gène de résistance fom 1 et âgés de 25 j sont inoculés par trempage des racines, après dépotage, dans une suspension de spores de *F. o. melonis*. Nous envisageons 3 cas différents :

- relation 1 : inoculation par la souche FOM 15 (race 0) : réaction d'incompatibilité;

– relation 2 : inoculation par la souche FOM 7 (race 1-2F) : réaction de compatibilité avec symptômes de flétrissement;
– relation 3 : inoculation par la souche FOM 24 (race 1-2 J) : réaction de compatibilité avec symptômes de jaunissement.

Les plants ainsi traités sont incubés en chambre climatisée jusqu'à l'apparition des symptômes foliaires.

Confection des coupes :

Des échantillons, prélevés dans la tige épicotylée, sont fixés par passage dans des solutions de glutaraldéhyde et d'osmium; ils sont ensuite déshydratés dans de l'éthanol, de l'oxyde de propylène et de l'acétone.

Après séchage, des coupes longitudinales sont effectuées, collées sur des porte-échantillons, métallisées à l'or par pulvérisation cathodique et observées à l'aide d'un microscope Jeol JSM 35 à 15 kv.

RÉSULTATS

1) Melon sain

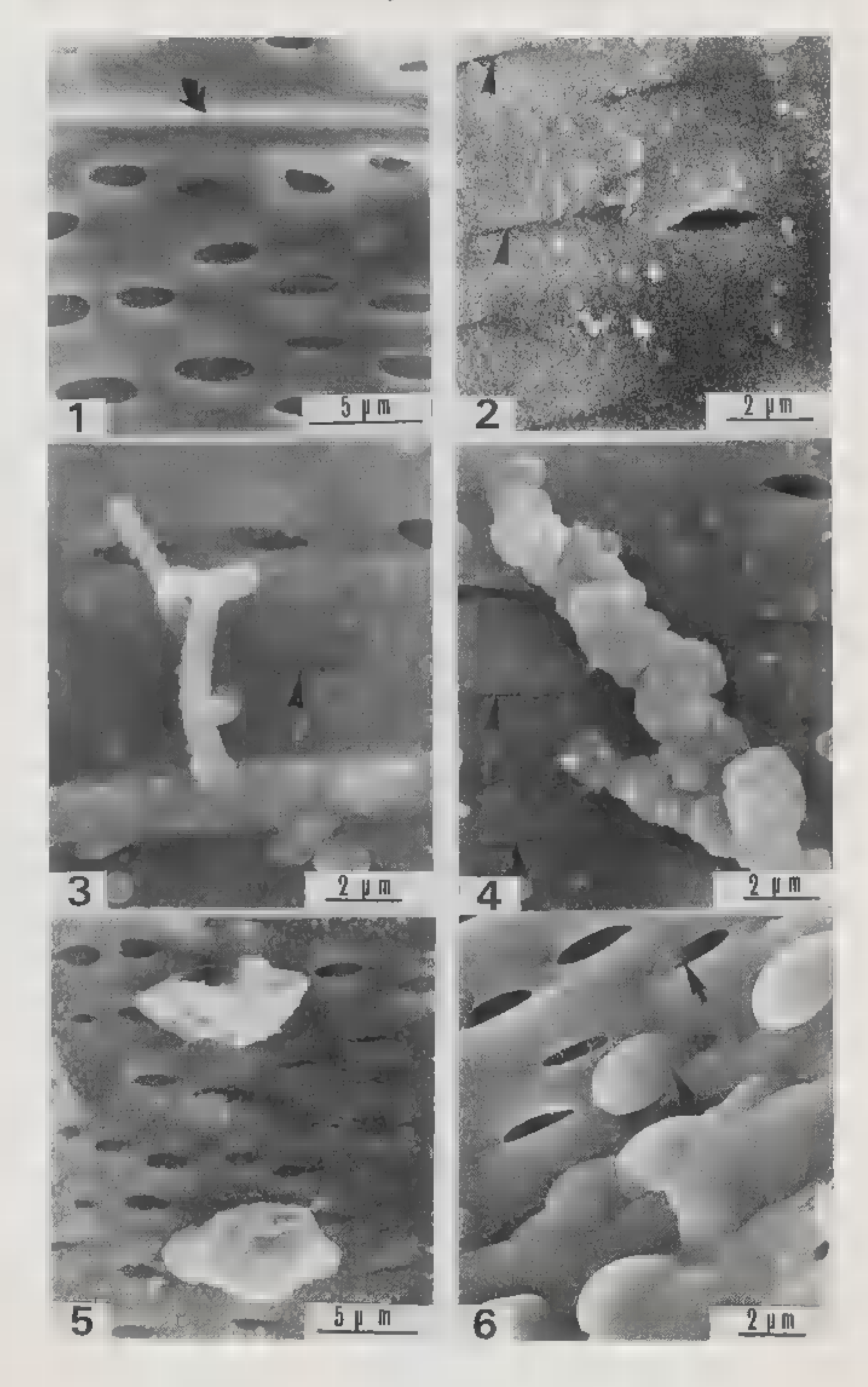
Dans ces conditions, les vaisseaux du xylème caulinaire différenciés paraissent vides; la face interne de la paroi est lisse. Les ponctuations aréolées sont nettes et les marges annulaires restant après l'hydrolyse des cloisons transversales sont très peu développées (Fig. 1).

2) Melons inoculés par du *F. o. melonis*

– Relation 1 : En cas d'association hôte-parasite incompatible, quelques vaisseaux montrent une surface interne rugueuse tapissée par un dépôt grumeleux et des ponctuations partiellement ou totalement bouchées par cette fine couche (Fig. 2 à 5). Des thylles sont également visibles (Fig. 5). Parfois, des gouttelettes exsudent au niveau des ponctuations et se déversent dans la lumière vasculaire (Fig. 6); leur aspect et leur forme sont différents de la couche pariétale. Les éléments fongiques y sont rares et, quand ils sont observés, ils apparaissent englués dans les dépôts qui les fixent à la surface vasculaire; cet enrobage peut recouvrir entièrement l'élément fongique (Fig. 3 - 4).

Par contre, la grande majorité des éléments conducteurs sont comparables à ceux observés chez le témoin sain.

– Relation 2 : Dans le cas d'une association hôte-parasite compatible avec symptômes de flétrissement, une évolution en partie analogue au cas précédent est notée; cependant le nombre d'éléments conducteurs atteints est plus élevé. La couche grumeleuse tapissant les vaisseaux, bouchant une proportion importante de ponctuations ainsi que les gouttelettes exsudant des ponctuations sont présentes (Fig. 7 à 9). Par contre, des différences très significatives sont obser-


1
5 µm
2
2 µm
3
2 µm
4
2 µm
5
5 µm
6
2 µm

vées : les hyphes fongiques bien développées dans les éléments conducteurs présentent une paroi lisse et ne sont pas engluées dans la couche grumeleuse. Les passages de mycélium à travers les ponctuations sont fréquents (Fig. 7) et les marges des perforations ne semblent pas gêner la progression du parasite dans les vaisseaux (Fig. 8 et 9).

– Relation 3 : Dans le cas d'une compatibilité avec symptômes de jaunissement, des réactions similaires à celles notées dans la relation 2 existent. Le mycélium très abondant présente toujours une paroi lisse; de nombreux vaisseaux sont colonisés. Cependant, la couche grumeleuse n'est pas visible; elle est soit absente, soit masquée par d'importants dépôts gommeux; ces substances qui occupent une partie importante de la lumière des vaisseaux ne semblent aucunement gêner la progression du mycélium à travers les ponctuations ou au niveau des marges de perforation (Fig. 10 à 12).

DISCUSSION ET CONCLUSION

La microscopie électronique à balayage nous permet de noter des réponses différentes au niveau des vaisseaux caulinaires de melon selon que la relation hôte-parasite se traduit par une réaction de compatibilité ou d'incompatibilité.

L'installation des hyphes mycéliennes est réduite en cas de résistance (relation 1): elle est, par contre, plus élevée en cas de sensibilité (relations 2 et 3). Dans

Fig. 1 à 6. – Coupes longitudinales dans des vaisseaux du métaxylème de melon Charentais-fom 1 (MEB).

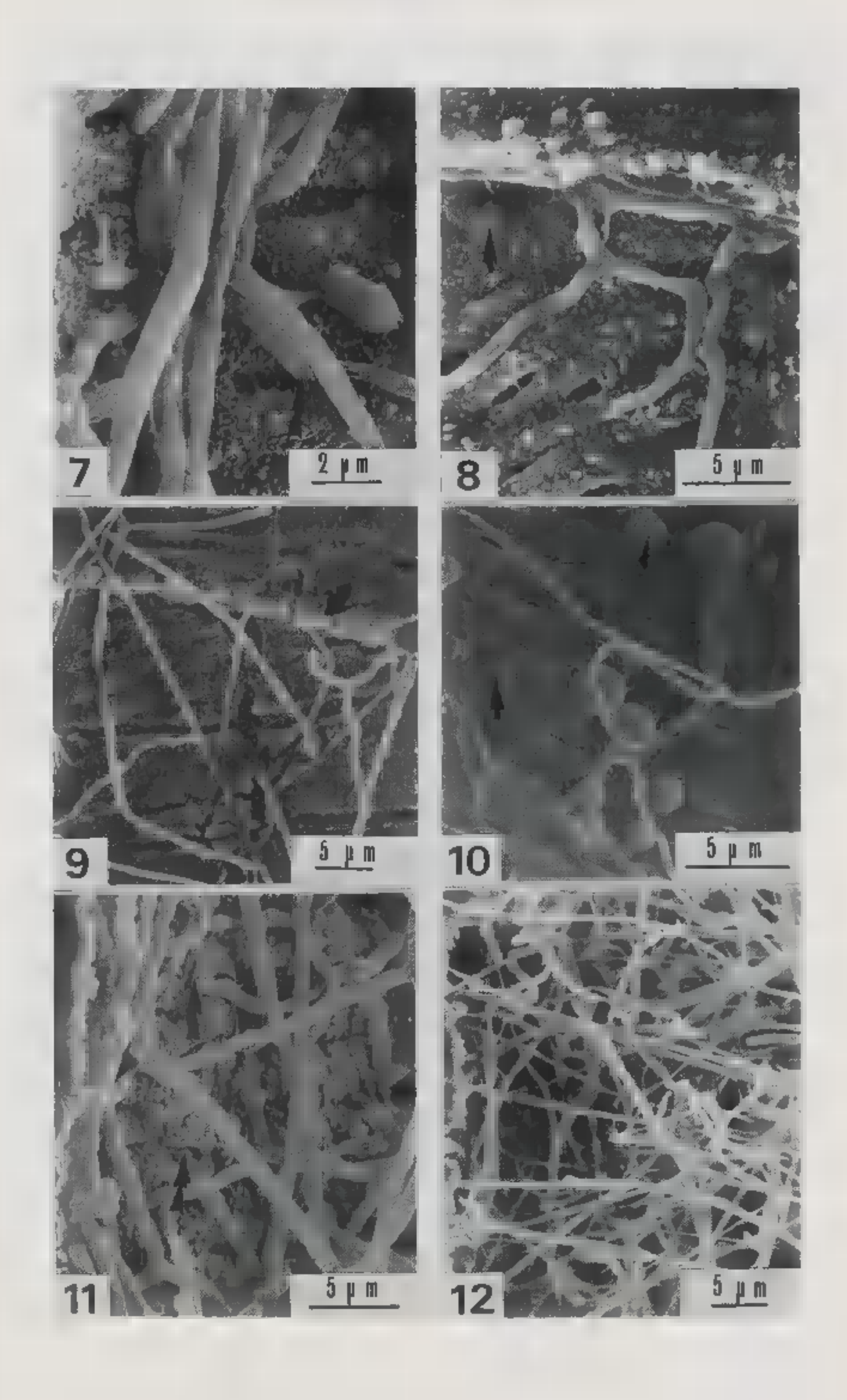
Fig. 1. – Melon sain : la paroi du vaisseau est lisse et les ponctuations nettes. La marge laissée par la cloison transversale est réduite (x 3.200).

Fig. 2 à 6. – Association incompatible : CH fom 1 x race 0.
Couche grumeleuse développée tapissant les vaisseaux (Fig. 2 à 5)
- Noter le nombre de ponctuations partiellement ou totalement bouchées (Fig. 2, x 6.000).
- Hyphes mycéliennes en partie (Fig. 3, x 6.000) ou totalement (Fig. 4, x 5.200) engluées.
- Thylles se formant dans les vaisseaux; leur paroi est aussi recouverte par la couche (Fig. 5, x 2.800).
- Des gouttelettes gommeuses exsudent des ponctuations (Fig. 6, x 4.500).

Fig. 1 to 6. – Longitudinal sections of metaxylem vessels in melon Charentais-fom 1 (SEM).

Fig. 1. – Uninoculated plant had smooth vessel and unobstructed pits. Perforation plate was reduced to rims (x 3.200).

Fig. 2 to 6. – Incompatible association : CH fom 1 x race 0
- Note that the vessel pits are partially or totally occluded by the vessel lining material (Fig. 2, x 6.000).
- Mycelium was in part (Fig. 3, x 6.000) or totally (Fig. 4, x 5.200) embedded by the granular sheath material.
- Vessel containing tyloses and an amorphous coating material (Fig. 5 x 2.800).
- Gum drops exsuding from vessel pits (Fig. 6, x 4.500).


7
2 μm
8
5 μm
9
5 μm
10
5 μm
11
5 μm
12
5 μm

ce dernier cas, les passages de mycélium à travers les ponctuations sont fréquents; ce phénomène joue un rôle important dans l'invasion du système vasculaire. Les thylles présentes ne sont pas en quantité et en taille suffisantes pour obstruer les vaisseaux et gêner la progression des éléments fongiques; il en est de même des marges laissées par les cloisons transversales après hydrolyse, supposées constituer des sites de piégeage ou de freinage du parasite par certains auteurs (BECKMAN, 1968; BECKMAN & al., 1972; ELGERSMA & al., 1972; PERESSE, 1975). Nos résultats vont dans le même sens que ceux obtenus par DIXON & PEGG (1969), COOPER & WOOD (1974), ainsi que STROMBERG & CORDEN (1980).

En aucun cas, nous n'observons de lésion ou dégradation des parois des éléments conducteurs infectés telle que les décrivent Van der MOLEN & al. (1977), SCHEFFER & ELGERSMA (1982), BISHOP & COOPER (1983).

Dans le cas de la réaction d'incompatibilité (relation 1) comme dans le cas de la relation compatible avec flétrissement (relation 2), une couche grumeleuse tapisse les éléments conducteurs atteints; elle finit par boucher un nombre élevé de ponctuations, mais dans le premier cas, cette couche concerne peu de vaisseaux. De telles observations se rapprochent de celles faites dans d'autres atteintes vasculaires du type fusarioses (STROMBERG & CORDEN, 1980; GBAJA, 1982), verticillioses (COOPER & WOOD, 1974; LE PICARD, 1979; DOUGLAS & Mac HARDY, 1981; ROBB & al., 1982) ou bactérioses (GARD-

Fig. 7 à 12. — Coupes longitudinales dans des vaisseaux du métaxylème de melon Charentais-fom 1 (MEB).

Fig. 7 à 9. — Association compatible avec flétrissement : CH fom 1 x race 1-2 F
- Présence de la couche grumeleuse; le mycélium développé possède une paroi lisse.
- Passage d'hyphes mycéliennes à travers les ponctuations (Fig. 7, x 4.800) ou par-dessus les marges de perforations (Fig. 9, x 1.600).
- Présence de gouttelettes gommeuses exsudant des ponctuations (Fig. 8, x 3.000).

Fig. 10 à 12. — Association compatible avec jaunissement : CH fom 1 x race 1-2 J.
- Importante exsudation gommeuse à travers les ponctuations (Fig. 10, x 2.800).
- Noter l'existence d'une gommose développée et d'un mycélium à paroi lisse passant à travers les ponctuations (Fig. 11, x 2.500).
- Mycélium abondamment développé avec absence de gommose (Fig. 12, x 1.500).

Fig. 7 to 12. — Longitudinal sections of metaxylem vessels in melon Charentais fom 1 (SEM).

Fig. 7 to 9. — Compatible association with wilt development : CH fom 1 x race 1-2 F.
- The granular sheath like material coated vessel surface.
- Hyphae spread through the bordered pit (Fig. 7, x 4.800) and through the perforation plate (Fig. 9, x 1.600).
- Gommosis from vessel pits (Fig. 8, x 3.000).

Fig. 10 to 12. — Compatible association with yellow development : CH fom 1 x race 1-2 J.
- An important gum secretion from vessel pits was noted (Fig. 10, x 2.800).
- Occurrence of a developed gummosis and normal *Fusarium* hyphae spreading through the bordered pits (Fig. 11, x 2.500).
- Mycelial growth filled the vessel lumen (Fig. 12, x 1.500).

NER & al., 1983). Une corrélation étroite entre la présence de cette couche et les symptômes de flétrissement est notée par ROBB & al. (1975, 1982) ainsi que par DOUGLAS & Mac HARDY (1981), ce que semble confirmer notre modèle.

En cas de résistance, un manchon grumeleux se dépose également sur les rares hyphes fongiques et finit par les engluer. GARDNER & al. (1983) montrent de même que ce matériel immobilise les souches bactériennes incompatibles. Par contre, en cas de relations compatibles, les hyphes mycéliennes, en nombre élevé dans les vaisseaux, présentent des parois lisses et ne semblent nullement souffrir de la présence de la couche grumeleuse (cas du flétrissement) ni de l'importante gommose (cas du jaunissement).

GBAJA (1982) montre, chez la tomate, que les vaisseaux colonisés par le *F. o. lycopersici* Sn. et H. ont une paroi lisse alors que le parasite est absent de ceux qui ont une paroi rugueuse. Cet auteur, de même que GARDNER & al. (1983) se demandent dans quelle mesure cette couche ne serait pas un artéfact de fixation.

L'absence de dépôt pariétal chez le melon sain ainsi que dans des vaisseaux non colonisés du melon infecté (cas d'incompatibilité) indique au contraire qu'il s'agit bien d'un produit de l'interaction hôte-parasite. La différenciation de cette couche est une conséquence de la pénétration du parasite dans les éléments conducteurs.

Une autre hypothèse (PEGG & al., 1976) consiste à considérer cette couche comme un manchon protecteur sécrété par les hyphes, les protégeant des substances antifongiques ou des enzymes lytiques de l'hôte; or nous ne l'avons jamais retrouvée sur du mycélium en cas de relation hôte-parasite compatible.

A la lumière de nos résultats, nous estimons que ces dépôts pariétaux ont l'hôte pour origine et qu'ils jouent un rôle important dans l'évolution de la pathogenèse, puisque plusieurs ponctuations finissent par être bouchées; ceci entraîne l'isolement des quelques vaisseaux infectés en cas de résistance et contribue à limiter la colonisation de l'hôte par le parasite. Par contre, en cas d'association compatible avec flétrissement, un nombre important de vaisseaux est mis hors circuit, entraînant des perturbations dans le transport de l'eau et l'apparition des symptômes foliaires.

Le rôle primordial joué par les cellules contiguës aux vaisseaux et leurs sécrétions intravasculaires dans l'organisation des premières étapes de résistance à l'infection a été bien mis en évidence dans le cas de verticillioses vasculaires de l'Œillet et du Tournesol (MOREAU & al., 1973, 1978, 1982; MOREAU & CATESSON, 1985; CATESSON & al., 1976; LE PICARD, 1979).

Comme le melon possède des cellules de contact typiques pourvues d'appareil de transfert (EL MAHJOUB & al., 1984 a), nous nous proposons d'étudier prochainement le rôle de ces cellules et leurs réactions suite à une infection par le *F. o. melonis*.

BIBLIOGRAPHIE

BECKMAN C.H. and HALMOS S., 1962 – Relation of vascular occluding reactions in banana roots to pathogenicity of root invading fungi. *Phytopathology* 52 : 893-897.

BECKMAN C.H., 1966 – Cell irritability and localization of vascular infections in plants. *Phytopathology* 56 : 821-824.

BECKMAN C.H., 1968 – An evaluation of possible resistance mechanisms in broccoli, cotton, and tomato to vascular infection by *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 58 : 429-433.

BECKMAN C.H., ELGERSMA D.M. and Mac HARDY W.E., 1972 – The localization of fusarial infections in the vascular tissue of single-dominant-gene resistant tomatoes. *Phytopathology* 62 : 1256-1260.

BECKMAN C.H. et TALBOYS P.W., 1981 – Anatomy of resistance. *In* : MACE M.E., BELL A.A. & BECKMAN C.H., *Fungal wilt diseases of plants*. New York & London, Academic Press : 487-521.

BISHOP C.D. and COOPER R.M., 1983 – An ultrastructural study of vascular colonization in three vascular wilt diseases. I. Colonization of susceptible cultivars. *Physiol. Pl. Pathol.* 23 : 323-343.

CATESSON A.M., CZANINSKI Y., PERESSE M. et MOREAU M., 1976 – Sécrétions intravasculaires de substances «gommeuses» par les cellules associées aux vaisseaux en réaction à une attaque parasitaire. *Bull. Soc. Bot. France* 123 : 93-107.

CONWAY W.S. and Mac HARDY W.E., 1978 – Distribution and growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 1 or race 2 within tomato plants resistant or susceptible to wilt. *Phytopathology* 68 : 938-942.

COOPER R.M. and WOOD R.K.S., 1974 – Scanning electron microscopy of *Verticillium albo-atrum* in xylem vessels of tomato plant. *Physiol. Pl. Pathol.* 4 : 443-446.

DIXON G.R. and PEGG G.F., 1969 – Hyphal lysis and tylose formation in tomato cultivars infected by *Verticillium albo-atrum*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 53 : 109-118.

DOUGLAS S.M. and Mac HARDY W.E., 1981 – The relationship between vascular alterations and symptom development in *Verticillium* wilt of *Chrysanthemum*. *Physiol. Pl. Pathol.* 19 : 31-39.

ELGERSMA D.M., Mac HARDY W.E. and BECKMAN C.G., 1972 – Growth and distribution of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in near-isogenic lines of tomato resistant or susceptible to wilt. *Phytopathology* 62 : 1232-1237.

EL MAHJOUB M., 1971 – Quelques aspects des rapports entre les parasites vasculaires et leurs hôtes; fusariose du melon et verticilliose de l'œillet. Thèse 3e cycle, Fac. Sci. Brest. 108 p.

EL MAHJOUB M., LE PICARD D. et CZANINSKI Y., 1984 a – Couche protectrice et appareil de transfert dans les cellules de contact du xylème primaire du melon (*Cucumis melo* L.). *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.,Sér. III*, 299, n° 19 : 809-812.

EL MAHJOUB M., LE PICARD D. and MOREAU M., 1984 b – Origin of tyloses in Melon (*Cucumis melo* L.) in response to a vascular *Fusarium*. *IAWA Bull.*, n. s., 5 : 307-311.

EL MAHJOUB M., 1985 – Susceptibilité variétale du melon à la fusariose vasculaire : approche biochimique et ultrastructurale. Thèse Doct. État, Univ. Bretagne occidentale, 171 p.

GARDNER J.M., FELDMAN A.W. and STAMPER D.G., 1983 – Role and fate of bacteria in vascular occlusions of citrus. *Physiol. Pl. Pathol.* 23 : 295-309.

GBAJA I.S., 1982 – Scanning electron microscopy of tomato plants colonized by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 79 : 540-542.

LE PICARD D., 1979 – La phialophorose du Tournesol. Comparaison avec d'autres maladies vasculaires. Thèse 3e cycle, Univ. Rennes, 62 p.

MOREAU M., CZANINSKI Y., CATESSON A.M. et PERESSE M., 1973 – Les cellules associées aux vaisseaux, siège des réactions de défense contre l'agression parasitaire dans les tissus du xylème de l'œillet. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. D*, 277 : 1017-1020.

MOREAU M., CATESSON A.M., PERESSE M. et CZANINSKI Y., 1978 – Dynamique comparée des réactions cytologiques du xylème de l'œillet en présence de parasites vasculaires. *Phytopathol. Z.* 91 : 289-306.

MOREAU M., CATESSON A.M. et DUVAL J.C., 1982 – Réponse des cellules contiguës aux vaisseaux selon la nature de l'agression. *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. III*, 294 : 553-556.

MOREAU M. and CATESSON A.M., 1985 – Responses of carnation xylem parenchyma contact cells to incompatible and compatible fungal vascular parasites introduced by wounding. *Ann. Bot. (London)* 55 : 225-236.

PEGG G.F., GULL K. and NEWSAM R.J., 1976 – Transmission electron microscopy of *Verticillium albo-atrum* hyphae in xylem vessels of tomato plants. *Physiol. Pl. Pathol.* [illegible] : 221-224.

PERESSE M., 1975 – Relations hôte-parasite dans les trachéomycoses. Quelques-uns de leurs aspects dans le modèle Oeillet - *Phialophora cinerescens* (Wr.) van Beyma. Thèse Doct. État, Univ. Bretagne Occidentale, 200 p.

RISSER G., BANIHASHEMI Z. and DAVIS D.W., 1976 – A proposed nomenclature of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* races and resistance genes in *Cucumis melo* L. *Phytopathology* 66 : 1105-1106.

ROBB J., BUSCH L. and LU B.C., 1975 – Ultrastructure of wilt syndrome caused by *Verticillium dahliae*. I. In *Chrysanthemum* leaves. *Canad. J. Bot.* 53 : 901-913.

ROBB J., SMITH A. and BUSCH L., 1982 – Wilts caused by *Verticillium* species. A cytological survey of vascular alterations in leaves. *Canad. J. Bot.* 60 : 825-837.

SCHEFFER R.J. and ELGERSMA D.M., 1982 – A scanning electron microscope study of cell wall degradation in elm wood by aggressive isolates of *Ophiostoma ulmi*. *Eur. J. Forest. Pathol.* 12 : 25-28.

STROMBERG E.L. and CORDEN M.E., 1980 – Scanning electron microscopy of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in xylem vessels of wilt-resistant and susceptible tomato plants. *Canad. J. Bot.* 58 : 2360-2366.

Van der MOLEN G.E., BECKMAN C.H. and RODEHORST E., 1977 – Vascular-gelation : a general response phenomenon following infection. *Physiol. Pl. Pathol.* 11 : 95-100.